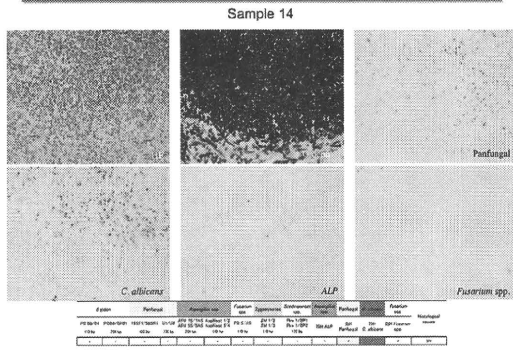
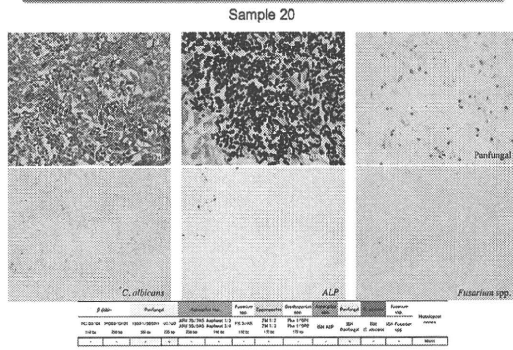


Presentation of representative cases in this study



10

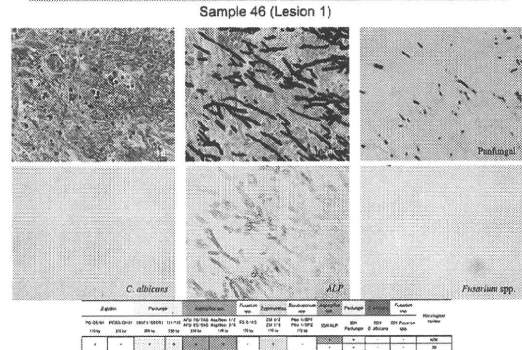
Presentation of representative cases in this study



• Trichosporon inkin strain PUNCHBY23 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1: 100%
 • Trichosporon ovalipes strain ATCC 90040 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene: 100%
 • Trichosporon asahi strain CBS 2479 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1: 99%

11

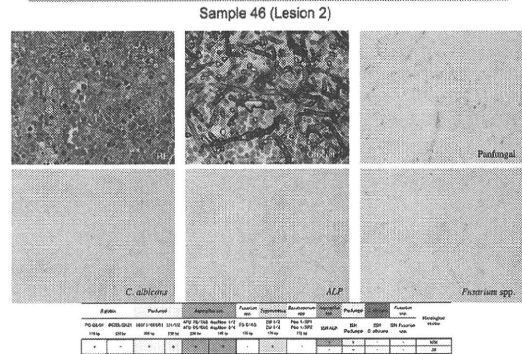
Presentation of representative cases in this study



* Aspergillus fumigatus strain 87Z702 18S ribosomal RNA gene, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, internal transcribed spacer 2, and 28S ribosomal RNA: 100%

12

Presentation of representative cases in this study



• Rhizomucor pusillus strain PZ22 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: 100%
 • Rhizomucor miehei 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: 100%

13

6. 新興再興真菌症・診断構築（遺伝子）
様々な検体からの遺伝子診断法のシステム化

研究分担者 榎村 浩一 帝京大学医真菌研究センター

研究協力者 佐藤 一朗 帝京大学医真菌研究センター

研究要旨 様々な検体からの遺伝子診断法のシステム化を目的とした研究として、北米に流行範囲を広げ我が国からも症例が報告された *Cryptococcus gattii* 感染症スクリーニングに用いることが可能な遺伝子診断法：

「*Cryptococcus neoformans* および *Cryptococcus gattii* を各々同定・検出するリアルタイムPCR法の研究・開発」に成功した。また、日和見感染症としてカテーテル関連真菌血症をはじめとする全身感染例の報告が増加しつつある *Malassezia* 症起因菌のヒトにおける生態学的分布を検討し、*M. slooffiae* がヒト外耳道にニッチを有する事を明らかにした。

A. 研究目的

1. *Cryptococcus neoformans* および

Cryptococcus gattii を各々同定・検出するリアルタイムPCR法の研究・開発：

(1) 本邦においてクリプトコックス症は主に *Cryptococcus neoformans* によって引き起こされる感染症であるが、豪州および熱帯地域からの輸入真菌症として、より深刻な中枢神経系後遺症が残る場合が知られる *C. gattii* に症例も散見される。

(2) 上述の通り *C. gattii* は本来熱帯地域に分布していたが、高病原性変異株 (VGIIc) によるパンデミックがカナダ・バンクーバー島 (1999年) から北米に広がり、本年初夏には初の国内発症例が報告された。

(3) *C. neoformans* と *C. gattii* を迅速かつ簡便に測定できるキットは現在販売されておらず、培養法で識別するためには数日を必要とする。しかし、基本的に我が国には *C. gattii* による

国内感染例はないので、まずは煩雑な遺伝子解析に先立って *C. gattii* 感染か否かを判別することが臨床的に求められている。

(4) よって、臨床検体および分離株から迅速かつ信頼性が高い *C. gattii* 検出・同定法が必要である。

そこで様々な検体からの遺伝子診断法のシステム化を目的とした研究として、これら2種類の菌を同時に識別するリアルタイムPCR法の研究・開発を試みた。

2. *Malassezia* 症起因菌のヒトにおける生態学的分布：日和見感染症として全身感染例の報告が増加しつつある *Malassezia* 属真菌との関連性を検討する目的で、健常者における本菌分離頻度を調査した。

B. 研究方法

1. *Cryptococcus neoformans* および *Cryptococcus gattii* を各々同定・検出するリ

アルタイム PCR 法の研究・開発：DDBJ などに登録されている *C. neoformans* および *C. gattii* の塩基配列から TaqMan[®]プローブおよびプライマーを設計した (図 1)。プローブは *C. neoformans* 用、*C. gattii* 用の蛍光色素が各々異なり、同一のプライマーセットで反応するため 2 種類を同時に使用できる。

2. *Malassezia* 症起因菌のヒトにおける生態学的分布：健常者 118 名 (22~62 歳, 平均: 33 歳) を対象に、外耳道より本属菌の検出を試みた。被検者別、年齢構成別に菌種分離頻度を検討した。また、外耳道炎患者 63 名 (1~89 歳, 平均: 61.1 歳) を対象に、*Malassezia* 外耳道炎の検出を試みた。外耳道に炎症所見を認めた患部スミアから直接鏡検により有意に本属真菌を認め、同時に同菌が分離培養され、かつ抗真菌薬の処方のみによって寛解または治癒に至った症例を *Malassezia* 外耳道炎症例とした。

C. 研究結果

1. *Cryptococcus neoformans* および

Cryptococcus gattii を各々同定・検出するリアルタイム PCR 法の研究・開発：標的遺伝子を組み込んだプラスミドでは、どちらのプローブも 5 コピーから検出可能 (図 2) であり、プローブおよび鋳型を複数混ぜることによる阻害は認めなかった。本プローブ系の特異度は、保存菌株によって確認できた (表 1)。コアラおよびその飼育環境から分離し、塩基配列で同定された約 200 株の酵母に対する試験では偽陽性・擬陽性共に認めなかった (表 2)。コアラ鼻腔スワブからも直接本菌を DNA 検出できた (表 3)。表には含めないが、*C. gattii* 保菌獣スミアからも直接本菌種 DNA が検出されている。

2. *Malassezia* 症起因菌のヒトにおける生態学的分布：健常者における本属真菌の分離頻度は加齢に伴い増加していた。菌種別分離頻

度は *M. slooffiae* が 44.9%、*M. restricta* が 15.3% であった (表 4)。ここで、外耳道特異的に *M. slooffiae* が多い傾向があったため、これを精査したところ、全外耳道炎症例における *Malassezia* 外耳道炎症例 (27~85 歳: 平均 65.2 歳) の頻度は 7.9% (5/63) であった (図 3)。症例の年齢は 27 歳の一症例を除き、高齢者であった。また、いずれの起因菌も *M. slooffiae* であった (表 5)。

D. 考察

1. *Cryptococcus neoformans* および

Cryptococcus gattii を各々同定・検出するリアルタイム PCR 法の研究・開発：以上より、(1)リアルタイム PCR を用いた *C. neoformans* と *C. gattii* を各々検出・同定するキットおよび検査手順の開発に成功した。

(2)当該キットの日本国特許申請を予定。

(3)当該研究論文は、既に投稿・審査中である。今後、

(1)開発したクリプトコックス症診断キットを各種臨床検体に適用し、知見の収集を行う。

(2)クリプトコックス症起因菌検出・同定のためのガイドライン提供が求められる。

2. *Malassezia* 症起因菌のヒトにおける生態学的分布：1)外耳道における本属真菌の検出率が高いこと、2)その頻度は加齢と共に増加すること、が示された。外耳道炎起炎菌としての意義は未だ本報告において提示する症例レベルの根拠に留まっているが、その病原的意義が示唆される。

E. 結論

1. *Cryptococcus neoformans* および

Cryptococcus gattii を各々同定・検出するリアルタイム PCR 法の研究・開発：

C. neoformans および *C. gattii* を迅速に同定・検出できるリアルタイム PCR 法が開発された。

2. *Malassezia* 症起因菌のヒトにおける生態学的分布： *Malassezia* 関連皮膚疾患同様、外耳道においても本属真菌が局所炎症に関与している可能性を提唱したい。

F. 健康危険情報

該当しない。

G. 研究発表

論文発表

1. Mekha N, Sugita T, Makimura K, Poonwan S P, Ikeda R, Nishikawa A. The intergenic spacer region of the ribosomal RNA gene of *Penicillium marneffeii* shows almost no DNA sequence diversity IGS region of *Penicillium marneffeii*. *Microbiology and Immunology*, 54(11): 714-716(3), 2010 November
2. Kano R, Yamada T, Makimura K, Kawasaki M, Mochizuki T, Kamata H, Hasegawa A. *Arthroderma benhamiae* (the teleomorph of *Trichophyton mentagrophytes*) mating type-specific genes. *Mycopathologia*. (in press)
3. Alshahni M, Yamada T, Sawada T, Takatori K, Makimura K. Insights into the nonhomologous integration pathway in the dermatophyte *Trichophyton mentagrophytes*: efficient targeted gene disruption by use of mutants lacking ligase IV. *Microbiology and Immunology*. (in press)
4. Ogawa H, Fujimura M, Takeuchi Y, Makimura K. A case of SAM; possibility of basidiomycetous fungi as a causative antigen in this new clinical concept. *Internal Medicine*. (in press)
5. Mirhendi H, Ghiasian A, Vismer HF, Asgary MR, Jalaliand N, Makimura K. Preliminary identification and typing of pathogenic and toxigenic *Fusarium* species using restriction digestion of ITS1-5.8S rDNA-ITS2 region. *Iranian Journal of Public Health*. (in press)
6. Sobukawa H, Kano R, Ito T, Onozaki M, Makimura K, Hasegawa A, Kamata H. *In vitro* algacidal effect of disinfectants on *Prototheca zopfii* genotypes 1 and 2. *Medical Mycology*. (in press)
7. Mekha N, Sugita T, Makimura K, Poonwan SP, Ikeda R, Nishikawa A. The intergenic spacer region of the ribosomal RNA gene of *Penicillium marneffeii* shows almost no DNA sequence diversity IGS region of *Penicillium marneffeii*. *Microbiology and Immunology*. 2010. (714-716)
8. Kaneko T, Shiota R, Shibuya S, Watanabe S, Umeda Y, Takeshita K, Yamamoto M, Nishioka K, Makimura K. Human External Ear Canal as the Specific Reservoir of *Malassezia slooffiae*. *Medical Mycology*. 2010. (824-827)
9. Alshahni MM, Makimura K, Yamada T, Takatori K, Sawada T. Nourseothricin acetyltransferase: a new dominant selectable marker for the dermatophyte *Trichophyton mentagrophytes*. *Medical Mycology*. 2010. (665-668)
10. Satoh K, Ooe K, Nagayama H,

- Makimura K · *Prototheca cutis* sp. nov., a newly discovered pathogen of protothecosis isolated from inflamed human skin · International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology · 2010 · (1236-1240)
11. Sugita T, Suzuki M, Goto S, Nishikawa A, Hiruma M, Yamazaki T, Makimura K · Quantitative analysis of the cutaneous *Malassezia* microbiota in 770 healthy Japanese by age and gender using a real-time PCR assay · Medical Mycology · 2010 · (229-233)
 12. Kishimoto Y, Kano R, Maruyama H, Onozaki M, Makimura K, Ito T, Matsubara K, Hasegawa A, Kamata H · 26S rDNA-based phylogenetic investigation of Japanese cattle-associated *Prototheca zopfii* isolates · The Journal of Veterinary Medical Science · 2010 · (123-126)
 13. 佐藤一朗、榎村浩一 特集 病原微生物検出法 up to date 6. 真菌感染症 Detection method for fungal infectious disease by the molecular biology 化学療法の領域 (株) 医薬ジャーナル社 26(5):p60(800)-p66(806), 2010 5月
 14. 小野崎正修、榎村浩一 「誰にでもわかる微生物検査法の実際」④ 真菌ー { I } 直接鏡検・培養検査 感染症 (通巻第233号) 40(3):33-39, 2010 5月
 15. 小野崎正修、佐藤一朗、榎村浩一 血清学的診断・遺伝子診断 感染症 Vol.40 No.4 (通巻234号)
 16. 小野崎正修、榎村浩一 院内感染症としての真菌症 総合臨床 60 (1) :126-128, 2011 永井書店
- 学会発表
- 1) 榎村浩一 シンポジウム「宇宙医学分野に寄与する衛生学研究」宇宙ステーション内生活環境における真菌叢と健康に対するインパクト (日本衛生学雑誌 65 巻 2 号 Page251 2010.04)第 80 回日本衛生学学会学術総会 仙台国際センター 2010 年 5 月 9 日 シンポジウム
 - 2) 榎村浩一 病原真菌とは何か 開講!平成真菌塾ー基礎から学ぶ真菌感染症ー (日本化学療法学会雑誌 58 巻 Suppl.A Page169 2010.04)第 58 回日本化学療法学会総会学術講演会 レクチャー1 長崎ブリックホール 2010.6.3.
 - 3) 榎村浩一 抗真菌薬の今までとこれからー今できることを考えるー (日本化学療法学会雑誌 58 巻 Suppl.A Page210 2010.04) 第 58 回日本化学療法学会総会学術講演会 教育セミナー4 長崎ブリックホール 2010.6.3.
 - 4) 榎村浩一 第 59 回神奈川医真菌研究会 横浜エクセルホテル東急 6 月 12 日 2010 年
 - 5) 榎村浩一 第 31 回関東医真菌懇話会 千代田放送会館 7 月 3 日 2010 年
 - 6) 榎村浩一 鑑別し難い真菌症:カンジダとその他の酵母 WEB シンポジウム (株) ファイザー 本社会議室 代々木 7 月 21 日 2010
 - 7) 榎村浩一 「皮膚科領域真菌症への分子生物学的アプローチとその限界」関西医真菌懇話会 大阪マルビル 大阪北区梅田 8 月 7 日 2010 特別講演
 - 8) 小野崎正修、榎村浩一、佐藤一朗、長谷川篤彦 Real-Time PCR 法を用いた *Prototheca zopfii* の遺伝子型の分類と診断 第 78 回日本細菌学会北海道支部総会・第 28 回日本クラミジア研究会合同学術集会 2010 年 9 月 4 日 酪農学園 北海道 江別市

- 9) 金子孝昌、塩田量子、榎村浩一 外耳道における *Malassezia* 属真菌の分離頻度と病原性；外耳道炎症例と健常者における比較検討 第 57 回日本臨床検査医学会学術集会 京王プラザホテル 新宿、東京 2010 年 9 月 10 日 (ポスター)
- 10) 佐藤一朗、西山彌生、月井雄二、杉田隆、高鳥浩介、辨野義己、山崎丘 榎村浩一 国際宇宙ステーション日本実験モジュール「きぼう」の真菌叢解析 第 57 回日本臨床検査医学会学術集会 京王プラザホテル 新宿、東京 2010 年 9 月 10 日 (ポスター) (臨床病理 58 巻補冊 p224、2010.7)
- 11) 佐藤一朗、大江健二、永山博敏、榎村浩一 皮膚炎患部から分離した新種の病原性藻類 *Prototheca cutis*. 第 57 回日本臨床検査医学会学術集会 京王プラザホテル 新宿、東京 2010 年 9 月 10 日 (ポスター) (臨床病理 58 巻補冊 p223、2010 年 7 月)
- 12) Mohamed Mahdi Alshahni、山田剛、榎村浩一 Development in tools for genetic manipulation of dermatophytes 第 54 回日本医真菌学会総会 大手町サンケイプラザ 東京 2010 年 10 月 17 日 (日) (研究セミナー 1)
- 13) 小野崎正修、榎村浩一、佐藤一朗、長谷川篤彦 Real-time PCR を用いた *Prototheca zopfii* の遺伝子型の分類と診断 第 54 回日本医真菌学会総会 大手町サンケイプラザ 東京 2010 年 10 月 16 日 (土) (セレクトッドシンポジウム)
- 14) 金子孝昌、塩田量子、梅田宜子、榎村浩一 外耳道における *Malassezia* 属の分離頻度と外耳道炎症例と健常者における比較検討 第 54 回日本医真菌学会総会 大手町サンケイプラザ 東京 2010 年 10 月 16 日 (土) (セレクトッドシンポジウム) (臨床病理 58 巻補冊 p223、2010.7)
- 15) 金子孝昌、室谷真紀子、大楠清文、杉田隆、榎村浩一 カテーテル関連 *Malassezia* 分離株の遺伝学的ならびに生物学的特徴 第 54 回日本医真菌学会総会 大手町サンケイプラザ 東京 2010 年 10 月 16 日 (土) (ポスター)
- 16) 小野崎正修、榎村浩一、佐藤一朗、長谷川篤彦 Real-Time PCR 法を用いた *Prototheca zopfii* の遺伝子型の分類と診断 第 54 回日本医真菌学会総会 大手町サンケイプラザ 東京 2010 年 10 月 16 日 (土) (ポスター)
- 17) 榎村浩一、佐藤一朗、西山彌生、高鳥浩介、杉田隆 国際宇宙ステーション「きぼう」における微生物研究：Microbe-I 成果報告 第 54 回日本医真菌学会総会 大手町サンケイプラザ 東京 2010 年 10 月 16 日 (土) (ポスター)
- 18) Mirhendi Hossein, Bruun Brita, Schønheyder Henrik Carl, Jørgen Christensen Jens, Fuursted Kurt, Gahm-Hansen Bente, Krogh Johansen Helle, Nielsen Lene, Dahl Knudsen Jenny, Cavling Arendrup Maiken, Koichi Makimura Differentiating of *C. glabrata*, *C. nivariensis*, and *C. braccarensis* based on polymorphism in rDNA. 第 54 回日本医真菌学会総会 大手町サンケイプラザ 東京 2010 年 10 月 16 日 (土) (ポスター)
- 19) Mohamed Mahdi Alshahni、山田剛、榎村浩一 Enhancement of gene-targeting frequency in the dermatophyte *Trichophyton mentagrophytes*. 第 54 回日本医真菌学会総会 大手町サンケイプラザ 東京 2010 年 10 月 16 日 (土) (ポスター)
- 20) 田村俊、深谷洋一、田永嘉久、池戸正成、榎村浩一 終末点判定に画像判定装置を使用した酵母様真菌の感受性測定法の検討 第 54 回日本医真菌学会総会 大手町サンケ

- イプラザ 東京 2010年10月16日(土)
(ポスター)
- 21) 佐藤一朗、宮嶋良治、榎村浩一
Cryptococcus neoformans および *C. gattii*
を各々同定・検出する PCR 法の研究・開発
第54回日本医真菌学会総会 大手町サンケイ
イプラザ 東京 2010年10月17日(日)
(ポスター)
- 22) Mirhendi Hossein, Mohammad Ghahri,
Mohammad Hossein Yadegari,
Mohammad Reza Shidfar, Koichi
Makimura Molecular identification of
pathogenic yeasts isolated from
onychomycosis in Tehran, Iran. 第54
回日本医真菌学会総会 大手町サンケイ
プラザ 東京 2010年10月17日(日)(ポ
スター)
- 23) 菊池賢、西村昌晃、村松昌武、平山紀夫、
渋谷和俊、篠崎稔、大久保陽一郎、榎村浩
二、田村弘志、平松啓一 ニワトリを用い
た食道カンジダ症ならびに全身性カンジダ
症モデルの作成 第54回日本医真菌学会
総会 大手町サンケイプラザ 東京 2010
年10月17日(日)(ポスター)
- 24) 金子孝昌、塩田量子、梅田宜子、榎村浩一
外耳道における *Malassezia* 属真菌の分離頻
度と病原性；外耳道炎症例と健常者におけ
る比較検討 第54回日本医真菌学会総会
大手町サンケイプラザ 東京 2010年10
月17日(日)(ポスター)(臨床病理 58
巻捕冊 p223、2010.7)
- 25) 金子健彦、青笹尚彦、榎村浩一
*Microsporum canis*によるケルスス禿瘡の
小児例 第54回日本医真菌学会総会 大
手町サンケイプラザ 東京 2010年10月
17日(日)(ポスター)
- 26) 榎村浩一 「起因菌から考える真菌症対
策」第107回ICD講習会 大手町サンケイ
プラザ 東京 2010年10月17日(日)
- 27) 榎村浩一 「生物要因について」第56回
日本宇宙航空環境医学会大会 サテライト
シンポジウム「宇宙基地における環境要因」
防衛医大 所沢 埼玉 2010年11月11日
- 28) 榎村浩一 ヒトの健康を障害する真菌と
その問題 第60回日本アレルギー学会秋
季学術大会 東京国際フォーラム 第5会
場 2010年11月27日 ワークショップ
- 29) 榎村浩一 「呼吸器真菌症と起因菌」第
36回埼玉呼吸器セミナー 川越プリンスホ
テル 2010年12月2日

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

特許取得(予定)

1. 榎村浩一、佐藤一朗：*Cryptococcus neoformans*および*Cryptococcus gattii*それぞれを同時に検知方法及び検知キット

図1. *Cryptococcus*共通プライマーと菌種特異的プローブの配置

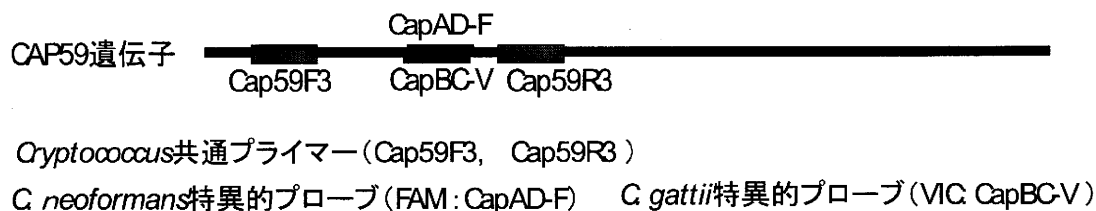


図2. 各プローブによる検出の感度と検量線

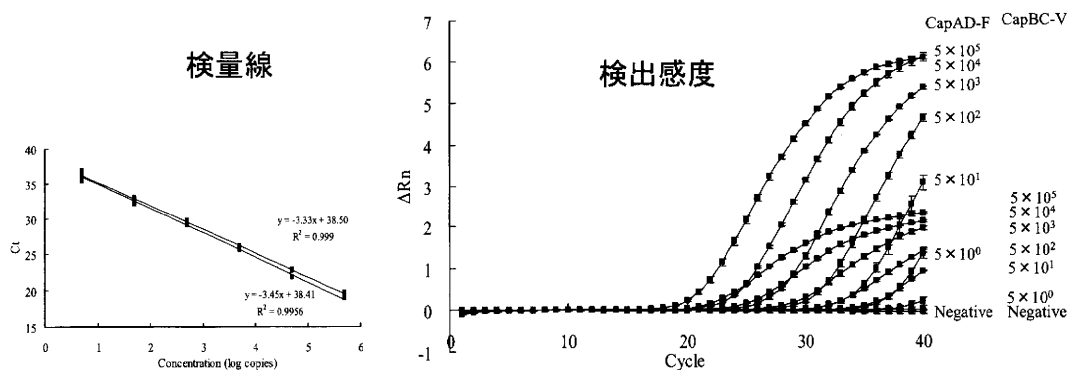


表 1. 本real-time PCR 系における被検標準菌株と検出結果

Strains	Probes	
	CapAD-F	CapBC-V
<i>Cryptococcus neoformans</i> TIMM 0362 (serotype A)	Positive	Negative
<i>Cryptococcus neoformans</i> TIMM 1316 (serotype D)	Positive	Negative
<i>Cryptococcus neoformans</i> TIMM 1317 (serotype AD)	Positive	Negative
<i>Cryptococcus gattii</i> TIMM 4904 (serotype B)	Negative	Positive
<i>Cryptococcus gattii</i> TIMM 1315 (serotype C)	Negative	Positive
<i>Aspergillus fumigatus</i> TIMM 3968	Negative	Negative
<i>Aspergillus niger</i> TIMM 0115	Negative	Negative
<i>Candida albicans</i> TIMM 1768	Negative	Negative
<i>Candida glabrata</i> CBS 138 ^T	Negative	Negative
<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 90018	Negative	Negative
<i>Sporobolomyces koalae</i> JCM 15063 ^T	Negative	Negative
<i>Rhodotorula minuta</i> TIMM 6222	Negative	Negative
<i>Thricosporon asahii</i> JCM 2466 ^T	Negative	Negative

表2. コアラおよび飼育環境分離株に対する試験結果

Strains	Number	Real-time PCR	
		CapAD-F	CapBC-V
<i>Cryptococcus neoformans</i>	56	Positive	Negative
<i>Cryptococcus gattii</i>	3	Negative	Positive
Other <i>Cryptococcus</i> spp.	54	Negative	Negative
Basidiomycetous yeasts (Except <i>Cryptococcus</i> spp.)	121	Negative	Negative
Micafungin resistance Ascomycetous yeasts	25	Negative	Negative

表3. コアラ鼻腔スミアから本法によって直接検出された *Cryptococcus* spp. DNA

Host	Real-time PCR (copies/swab)		Cultutre (CFU/swab)	
	CapAD-F	CapBC-V	<i>C. neoformans</i>	<i>C. gattii</i>
15 years old, ♂	16 (max 947, min negative)	Negative	22	0
17 years old, ♀	15143 (max 84830, min 860)	Negative	175	0
10 years old, ♀	Negative	Negative	0	0
2 years old, ♀	Negative	Negative	0	0

Real-time PCR is the mean of the 6 repetition.

表4. 健常成人表皮における酵母の分布 (CHRMager Candida/Malassezia™分離培養)

No. of subjects	Sampling method (culture media)	Presence on (% of detected subjects)					
		Forehead	External ear	Nose wing	Trunk	Armpit	Cubital fossa
9	Taping (CHROM)	<i>M. sympodialis</i> (33.3%) <i>M. furfur</i> (22.2%) Culture negative (44.4%)	<i>M. sympodialis</i> (44.4%) <i>M. slooffiae</i> (22.2%) <i>M. furfur</i> (11.1%) <i>C. albidus</i> (11.1%) Culture negative (11.1%)	<i>M. sympodialis</i> (33.3%) <i>M. furfur</i> (11.1%) Culture negative (55.5%)	<i>M. sympodialis</i> (44.4%) <i>M. furfur</i> (11.1%) Culture negative (44.4%)	<i>M. sympodialis</i> (44.4%) <i>M. furfur</i> (33.3%) <i>C. uniguttulatus</i> (11.1%) <i>C. albidus</i> (11.1%) Culture negative (22.2%)	<i>M. sympodialis</i> (44.4%) <i>M. furfur</i> (33.3%) Culture negative (22.2%)

図3. 健常成人外耳道におけるMalassezia菌種分離頻度

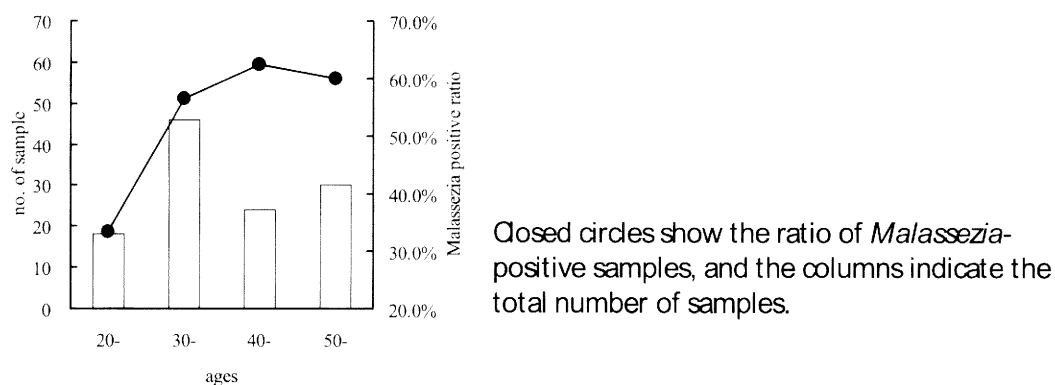


表5. 健常成人外耳道分離 *Malassezia* 菌種の年齢構成別分離頻度

Age	Male				Female			
	No. of				No. of			
	subjects	positive subjects (%)	species (%)		subjects	positive subjects (%)	species (%)	
20・29	8	3 (37.5)	<i>M. slooffiae</i> 3 (37.5%)	<i>M. restricta</i> 0 (0.0%)	10	3 (30.0)	<i>M. slooffiae</i> 3 (30.0%)	<i>M. restricta</i> 1 (10.0%)
30・39	26	16 (61.5)	<i>M. slooffiae</i> 12 (46.2%)	<i>M. restricta</i> 6 (23.1%)	20	10 (50.0)	<i>M. slooffiae</i> 7 (35.0%)	<i>M. restricta</i> 3 (15.0%)
40・49	10	7 (70.0)	<i>M. slooffiae</i> 6 (60.0%)	<i>M. restricta</i> 1 (10.0%)	14	8 (57.1)	<i>M. slooffiae</i> 7 (50.0%)	<i>M. restricta</i> 3 (21.4%)
50・59	14	11 (78.6)	<i>M. slooffiae</i> 8 (57.1%)	<i>M. restricta</i> 4 (28.6%)	16	7 (43.8)	<i>M. slooffiae</i> 7 (43.8%)	<i>M. restricta</i> 0 (0.0%)
Total	58	37 (63.8)	<i>M. slooffiae</i> 29 (50.0%)	<i>M. restricta</i> 11 (19.0%)	60	28 (46.7)	<i>M. slooffiae</i> 24 (40.0%)	<i>M. restricta</i> 7 (11.7%)

7. 日本における *Trichophyton tonsurans* 感染症の疫学とその感染対策に関する研究

研究分担者 比留間 政太郎 順天堂大学医学部附属練馬病院皮膚アレルギー科

研究協力者 小川 祐美 順天堂大学医学部皮膚科講座

廣瀬 伸好 順天堂大学スポーツ健康科学部 柔道研究室

野口 博光 のぐち皮膚科医院

研究要旨 日本においては、*T. tonsurans*感染症が格闘技選手の間で流行しており、その対策が急務である。今回は、これまで2008年、2009年に調査してきた団体を対象に、同様の調査を行った。対象者は2010年度に東京学生柔道連盟に登録された柔道部員1281名である。調査方法は、調査用紙と丸形ブラシで頭部をブラシして培養した。治療方法は、菌量が2集落以下の場合、抗真菌剤入りシャンプーのみ使用、菌量が3集落以上の者は、シャンプーに加えて内服治療を指示した。内服の内容はイトラコナゾールでは400mg/日を1週間内服、テルピナフィンにおいては125mg/日を6週間、または500mg/日を1週間とした。治療から3ヵ月後に2回目のブラシ検査を施行した。ブラシ培養陽性者は、1281名中76名（5.9%）で、この76名のうち、69名（90.8%）は、症状を認めず無症候性キャリアであった。陽性者の治療結果については、2回目のブラシ培養検査を受けた74名の陽性者のうち64名で菌陰性化した。ブラシ培養陽性者の罹患率は5.93%と高率であったが、2008年度の11.3%と比較すると、やや減少傾向がみられた。治療による菌陰性化率は86.5%と高率であり、この方法を徹底することにより、トングランズ感染症のコントロールが可能になると考えた。しかし、ガイドライによる治療終了後にも陰性化しない症例もあること、高校生の新入生からの陽性者の流入はあきらかであり、各世代における組織全体を総括した定期的なブラシ培養検査の実施と治療の在り方を検討する必要がある。

A. 研究目的

日本においては、2000年頃より *Trichophyton tonsurans* 感染症が格闘技選手の国際交流試合を通じて持ち込まれ、格闘技選手、学校内、家族、友人の間で流行するようになり、真菌症新興感染症の一つとして大きな社会問題となっている。既に本症が流行してから10年が経過したが、競技現場における発症例はいまだに多く、格闘技選手より学童、幼児、家族内へ拡大しており、その対

策は急務を要する。本症の特徴である無症候キャリアがさらに拡大していることは明らかであり、正確な患者数の把握が困難な状況になりつつあり、治療法についても、確かな方法が確立されていない。

トングランズ感染症の蔓延を阻止するために、その有効な検査法の一つと考えられるブラシ検査法を確立すること、本症の拡大の状況を把握すること、さらには、本症の蔓延を阻止する治療法を確立する必要がある。

われわれは、団体組織下の全登録選手を対象に調査を実施し、年度毎の罹患状況の推移と治療成果について追跡調査を行ってきた。この報告では2010年度の調査の結果について報告し過去の成績と比較する。

B. 研究方法

1. 対象

対象者は、東京学生柔道連盟に競技登録した全大学柔道選手（50大学チーム）1293名のうち、本研究の主旨に賛同した1281名である。対象者の多くが共同の寮生活であり、毎年、全国の強豪校から多くの高校生が入学し、年度ごとの卒業により多くの柔道部員が入れ替わる。

2. 調査方法

調査用紙に従って年齢、性別、身長、体重、居住様式、同居者数、運動時間、過去および現在における白癬様皮疹の有無、治療内容などを記入させた。検体採取は2010年5月1日から5月31日に各大学において練習前に丸形ブラシ（126スパイク）で頭部を15～20回程度強く擦り、ブラシをポリ袋に入れてわれわれの研究室へ送付させた。培養はマイコセル寒天平板培地、25℃で14日間培養後判定した。

3. 治療方法

本検査におけるブラシ培養検査の陽性者には、集落数と治療のプロトコルを記載した検査結果を送付し、近隣の皮膚科医の受診を勧めた。また、柔道場の掃除、柔道着、下着の洗濯など、日常の予防方策についても指示した。

治療方法は、菌量が2集落以下の場合は、抗真菌剤入りシャンプーのみ使用、菌量が3集落以上の者は内服治療を指示した。内服の内容はイトラコナゾールでは400mg/日を1週間内服、テルビナフィンでは125mg/日を6週間、または500mg/日を1週間とした。その後、菌が消えたかどうか確認するために、3ヵ月後に2回目のブラシ検査を施行した。

C. 研究結果

1. 大学柔道選手の罹患状況について（表1）

ブラシ培養検査結果とタムシ病変の有無を表1に示した。検査を実施した1281名（男1083名、女198名）中、ブラシ培養陽性者は76名（5.4%）（男71名、女5名）であった。体部白癬が発症している者は1281名中33名（2.6%）であった。ブラシ培養陽性者76名のうち、現在の体部白癬発症者は7名（9.2%）で、残りの69名（90.8%）は無症候性キャリアであった。

表1. 東京学生柔道連盟トングランス感染症検査結果

	2008年度	2009年度	2010年度
連盟登録人数	914	1274	1293
検査人数	902	1260	1281
ブラシ検査陽性者	102/902(11.3%)	76/1260(6.0%)	76/1281(5.9%)
タムシ発症者	41/902(4.5%)	28/1260(2.2%)	33/1281(2.6%)
タムシ既往	—	812/1260(64.4%)	828/1281(64.6%)
無症候性キャリア	88/102(86.3%)	70/76(92.1%)	69/76(90.8%)
ブラシ陽性+タムシ既往	84/102(82.4%)	68/76(89.5%)	66/76(86.8%)
タムシ既往者のブラシ陽性率	—	68/812(8.4%)	66/828(8.0%)
治療後の陰性化率	85/96(88.5%)	66/70(85.7%)	64/74(86.5%)

2. 学年別のブラシ培養結果 (表 2)

2008 年、2009 年、2010 年と毎年ブラシ検査を行って来た。その陽性者の割合は、2008 年度は、各学年でほぼ同率であったが、2010 年度には、1 年生に 59.2%と多く、高学年に進む

に連れて低下した。

3. ブラシ培養陽性者の治療

ブラシ検査陽性者 76 名のうち 74 名が 2 回目のブラシ培養検査を受け、64 名 (86.5%) で菌陰性化していた。

表2. 学年別のブラシ陽性者率

	2008 年度	2009 年度	2010 年度
陽性者/全検査人数	102/902	76/1260	76/1281
4年生	19.60%	10.50%	9.20%
3年生	21.60%	9.20%	9.20%
2年生	29.40%	23.70%	21.10%
1年生	29.40%	54.00%	59.20%

D. 考察

2010 年度に東京学生柔道連盟に登録の柔道選手の罹患状況については、ブラシ培養陽性者の罹患率は 5.9%であった。2008 年度、11.3%、2009 年度、6.0%と比べるとやや低下傾向が認められた。男子選手の罹患率が高く、男子を中心とした感染拡大が示めされた。この 5.9%のブラシ培養陽性者の中で体部白癬の発症者は、9.2%と少なく、90.8%が無症候であった。この結果はタムシ病変発症者の症例数が多い従来の報告と異なり、無症候キャリアが増加していた。このことは、日常、临床上はトングランス感染症が沈静化しているかに見える現状と一致したがいまだに感染者数は、減少してないことが判明した。従ってクラブ内では、定期的に全員が検査および治療をおこなわないと本感染症を撲滅することは出来ないと言える。

無症候キャリアの増加は、タムシ病変発症の自覚症状がないために、選手自身が感染確認することが困難な状況であるため、今後、

感染が再蔓延する可能性もあることが予想される。また、大学卒業後は柔道界を巣立っていくため、同感染症の啓発がなされない状態になることも危惧される。また、ブラシ培養陽性者のうち、過去 (中学・高校・大学) のタムシ罹患者は高率であり、治療がタムシ病変のみを対象した処方にとどまっている可能性が示唆された。程度にもよるがタムシ病変についても内服治療の検討が必要であると考えられた。

組織全体を網羅した大学柔道選手の *T. tonsurans* 感染症は無症候キャリアの割合が最も多い現況にある。今後は、医療機関との連携を一層強め、「タムシ病変発症即外用治療」ではなく、「各世代における組織全体を総括した定期的なブラシ培養検査の施行、陽性者は内服治療」のスタイルを啓発していく必要がある。また、検査後の治療についても、完治を確認しないままに終了するケースも多く、感染者のスクリーニングとともに、再ブラシ検査を含めた完治するまでの適切な治療内容について検討を要すると考える。

E. 結論

*T. tonsurans*感染症について、東京学生柔道連盟登録選手においては、ブラシ検査陽性者（頭部菌陽性者）は、2008年、2009年、2010年の検査において、5.9-11.3%であり、以前高率であることが判明した。陽性者に対するガイドラインに基づいた治療では、85.7-88.5%で、菌の陰性化を得ることが出来た。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. Tokuhisa Y, Hagiya Y, **Hiruma M**, Nishimura K. Phaeohyphomycosis of the face caused by *Exophiala oligosperma*. Mycoses accepted for publication 2010
2. Abdel-Rahman SM, Sugita T, González GM, Ellis D, Arabatzis M, Vella-Zahra L, Vigié-Vallanet C, **Hiruma M**, Leeder JS, Preuett B. Divergence among an international population of *Trichophyton tonsurans* isolates. Mycopathologia 169:1-13, 2010
3. Watanabe S, Harada T, **Hiruma M**, Iozumi K, Katoh T, Mochizuki T, Naka W. Japan Foot Week Group. Epidemiological survey of foot diseases in Japan: results of 30,000 foot checks by dermatologists. J Dermatol. 37: 397-406. 2010
4. 國武裕子, 野口博光, **比留間政太郎**. 熊本県の一診療所で経験された *Trichophyton tonsurans* 感染症 13 例の集計. 西日本皮膚科 72: 136-140, 2010
5. 服部真理子, **比留間政太郎**, 大月亜希子, 康井真帆, 貞政裕子, 矢口均. そう痒性

皮膚疾患を対象としたセチリジン塩酸塩ドライシロップ(ジルテックドライシロップ 1.25%)の服薬アドヒアランスに関する患者調査. 西日本皮膚科 72: 251-255, 2010

6. 服部真理子, 大月亜希子, 康井真帆, 貞政裕子, **比留間政太郎**. 足白癬に対するラノコナゾール(アスタット)クリーム of 早期および重症度別治療成績の検討. 西日本皮膚科 72: 531-536, 2010
7. **比留間政太郎**. 爪白癬と股部白癬の種類. 日本医事新報 4476: 56-57, 2010

学会発表

1. 比留間政太郎. *Trichophyton tonsurans* 感染症: ブラシ検査・治療・予防の指針. 第109回日本皮膚科学会総会、4/16-18, 2010 大阪
2. 太田美和、木下洋和、上條麻弥、新美美希、小川祐美、**比留間政太郎**、池田志孝、佐野文子. 左手背に生じた *Exophiala xenobiotica* による phaeohyphomycosis の1例. 第54回日本医真菌学会総会、10/16, 17, 2010 東京
3. 榮仁子、野口博光、服部真理子、**比留間政太郎**. 最近3年間に熊本の一診療所で経験された *Microsporum canis* による白癬の17例. 第54回日本医真菌学会総会、10/16, 17, 2010 東京
4. 廣瀬伸好、菅波盛雄、小川祐美、**比留間政太郎**. 2008-2010年度東京学生柔道連盟登録選手対象の *Trichophyton tonsurans* 感染症の簡易調査とその治療成績. 第54回日本医真菌学会総会、10/16, 17, 2010 東京
5. 野口博光、榮仁子、服部真理子、**比留間政太郎**. 顔面に生じた *Trichophyton verrucosum* による白癬の2例. 第54回日本医真菌学会総会、10/16, 17, 2010 東京

6. 岩本怜、横山利幸、**比留間政太郎**、佐野文子、村上晶. *Alternaria alternata* による角膜真菌症の1例. 第54回日本医真菌学会総会、10/16, 17, 2010 東京
7. 金井崇博、杉田隆、**比留間政太郎**、池田玲子、西川朱実. アトピー性皮膚炎患者の重症度と *Malassezia* 定着量の相関. 第54回日本医真菌学会総会、10/16, 17, 2010 東京
8. **比留間政太郎**. 足白癬の診断と治療:最新情報. 第54回日本医真菌学会総会、10/16, 17, 2010 東京
9. **比留間政太郎**. 日本における

Trichophyton tonsurans 感染症の疫学とその感染対策に関する研究(学会賞記念講演). 第54回日本医真菌学会総会、10/16, 17, 2010 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし
 特許取得
 なし
 実用新案登録
 なし
 その他
 なし

8. トリコフィトンズランス感染症の診断治療法の構築と、病原性解明に関する応用研究
— トンズランス感染症の診断法構築 —

研究分担者 望月 隆 金沢医科大学 医学部 皮膚科学部門

研究協力者 安澤 数史 金沢医科大学 医学部 皮膚科学部門

研究要旨 (1) 白癬菌 *T. tonsurans* の保存株に対して、種内変異の鑑別が可能な分子マーカー(リボソーム DNA の non-transcribed spacer 領域の制限酵素分析、以下 NTS-RFLP) を適応した。こうして得られた種内変異グループ(molecular types)のうち、NTS I, NTS II の各 10 株、NTS III の 4 株について集落の成長速度と形態、抗真菌剤テルビナフィン(TBF)、イトラコナゾール(ITCZ)、フルゾール(FCZ)、グリセオフルビン(GRF)に対する最少発育阻止濃度(MIC)を検討した。その結果、抗真菌剤に対する MIC では molecular type 別の特定の傾向は認めなかった。なお全ての株の MIC を見ると TBF 0.06-0.004 μ g/ml、ITCZ 0.13-0.001 μ g/ml、FCZ 32-0.5 μ g/ml、GRF 4-0.25 μ g/ml であった。

(2) 早期からの *T. tonsurans* の同定に利用しうる形質の一つとして、培地内に伸展する菌糸の形状を観察した。KMU6978 株のみの観察ではあるがクロロマイセチン添加サブロー培地 25°C 培養で、接種 106 時間には介在性硬膜胞子が生じることが連続撮影により観察された。この所見は本菌の迅速同定に有用な形態学的所見と考えられた。

A. 研究目的

Trichophyton tonsurans は欧米の頭部白癬の主要原因菌として知られている。日本でも 2001 年頃から格闘技競技者の白癬の集団発生例から相次いで分離されるようになり、最近では家族内で二次感染が発症するなど、社会への感染拡大が懸念されている。この感染症の診断を巡る問題として、分離、培養された真菌の迅速同定法の改良、疫学的側面から見た原因菌の特徴の解明、さらに皮膚に寄生した状態の真菌を効率よく検出する方法の開発が求められている。今回はこのうち迅速同定法に用いる形態的特徴の検討、ならびに分子生物学的に type 分けされた臨床分離株の形態学的な差異、抗真菌剤への感受性の差異について検討した。

B. 研究方法

菌株：先にわれわれは金沢医科大学に保存してある *T. tonsurans* の 2007-2008 年の臨床分離株につき、種内変異の鑑別が可能な分子マーカー(リボソーム DNA の non-transcribed spacer (NTS) 領域の制限酵素分析、以下 NTS-RFLP) を適応し、格闘技からの分離株は NTS I, II, III の 3 つの molecular type よりなることを報告した(Mochizuki et al, Jpn J Infect Dis, 60:188-192, 2007, Jpn J Infect Dis, 61:219-222, 2008)。これらの molecular type より分離地域に偏りがないように NTS I, II, III を各々 10 株、10 株、4 株選択した。

培養形態：各菌株を potato dextrose 寒天平板で巨大培養を行った。培養は 2 週間 30°C で行い、コロニーの性状、直径を計測した。さらにホル

マリン固定したコロニーについて培地内の硬膜胞子の形成の有無を調べた。これとは別に臨床分離株 KMU6879 (NTS I) をクロロマイセチン添加サブロー平板培地に摂取し、25°Cで培養し、これを経時的に写真撮影し、硬膜胞子形成過程を観察した。

薬剤感受性: 上記24株をにつき微量液体希釈法方法により最少発育阻止濃度 (MIC) を測定した。方法は概ね日本医真菌学会標準化委員会報告 (1995-1997年) (1999) の記載によった。分生子の懸濁液はポテト寒天培地で培養し、コロニー表面から掻き取り、濾過後、濃度が 2.5×10^4 /mlになるよう生理食塩水で調整した。発育はマイクロプレートに作成した希釈系列に 2×10^3 個の分生子を接種し、コントロールでのAlamar Blueによる赤変の有無をまっけて変色 (発育) の有無を判定した。薬剤はテルビナフィン (TBF)、イトラコナゾール (ITCZ)、フルゾール (FCZ)、グリセオフルビン (GRF) とし、各々 1 回行った。

C. 研究結果

1. 培養形態

各分子型別の 2 週間後のコロニー直径は NTS I 9-44mm (平均27mm), NTS II 15-49mm (平均32mm), NTS III 23-45mm (平均37mm)、コロニーの性状はいずれも淡褐色からクリーム色で表面は微細粉状から短い絨毛状で多くは寒天内に匍枝をのびし辺縁ではやや放射状に見える。今回同じ株でも繰り返しての培養でコロニーの発育、色調が著しく異なる事があり、また一つのコロニーの一部に異なる性状の菌要素が生じるなど変異の幅が大きかった。固定した菌では全ての菌株で裏面から豊富に介在性硬膜胞子が観察され、コロニー辺縁では端在性硬膜胞子を示すものがあつた。以上より molecular type 別の形態学的変化は一定の傾向が見られなかつた。経時的観察では接種後102hでは栄養菌糸のみ見られたが、106hでは、102h以降、新たに

伸展した菌糸に介在性の硬膜胞子の形成が見られた。

2. 薬剤感受性

NTS I は TBF $x1-x1/2$ (n=9), ITCZ 0.13-0.001 μ g/ml, FCZ 16-0.5 μ g/ml, GRF 2-0.25 μ g/ml, NTS II は TBF $x4-x1/2$ (n=10), ITCZ 0.03-0.002 μ g/ml, FCZ 32-0.5 μ g/ml, GRF 2-0.5 μ g/ml, NTS III は TBF $x2-x1/4$, ITCZ 0.002-0.004 μ g/ml, FCZ 8-0.5 μ g/ml, GRF 4-1 μ g/ml であつた。molecular type 別では一定の傾向は見られなかつた。これを全体でみると TBF $x4-x1/4$, MIC90 $x2$ (n=23), ITCZ 0.13-0.001 μ g/ml, MIC90 0.015 μ g/ml (n=24), FCZ 32-0.5 μ g/ml, MIC90 16 μ g/ml (n=24), GRF 4-0.25 μ g/ml MIC90 2 μ g/ml (n=24) であつた。TBF, GRF では株間で比較的 MIC の幅が小さく、ITCZ, FCZ では幅が大きかつた。また ITCZ で高い MIC を示した 3 株は FCZ でも高い MIC を示す傾向があつた。なお TBF については、発色が不安定であり数値は同一のマイクロプレート上で測定した quality control (QC) 株の MIC (0.016 μ g/ml であることが知られている) との比で示した。これを QC 株の MIC から換算すると、MIC は 0.06-0.004 μ g/ml, MIC90 0.03 μ g/ml となる。また一部菌株は測定中である (報告書作成時)。

D. 考察

T. tonsurans のリボソーム DNA の NTS 領域による molecular type 分け法は、菌の伝播様式の解析に有用な分子マーカーと考えられる。われわれの先の研究で本邦分離株は NTS I から NTS VIII の 8 型に分けられ、さらに格闘技における集団発生分離株と散発例分離株では主要な分子型が異なることを示した。このうち NTS I は柔道、レスリングともに認められ、分離株の大多数を占める。NTS II はほとんどレスリングに限られ、NTS III は少数が柔道、レスリングに見られるが、分離数は少ない (Mochizuki et al, Jpn J Infect Dis, 60:188-192, 2007, Jpn J Infect Dis, 61:

219-222, 2008)。この分子タイプ別に生物学的性状に差があるか興味あるところであった。しかし今回の検討では、形態学的には差は認められず、抗真菌剤に対する感受性の差も認められなかった。なお本菌の微量液体希釈法による感受性はTBF 0.025-0.0031 μ g/ml, MIC₉₀ 0.013 μ g/ml, ITCZ 0.2-0.013 μ g/ml, MIC₉₀ 0.1 μ g/mlと報告されており(古賀ほか、真菌誌47:299-304, 2006)、これと比較するとTBFではほぼ同等、ITCZでは1桁効果が高く計測されている。基本的な測定方法は古賀らの報告と今回の研究とで変わる所はないが、使用した菌株の保存状態がこの差の原因と考えられる。

本菌における培地内の硬膜胞子の形成は培養初期から見られ、本菌の特徴である可能性が指摘されていた(藤広、私信)。今回これを確かめるために巨大培養のシャーレを裏面から顕微鏡的に観察し、24株中23株で培養2週間で硬膜胞子が観察できることが確かめられた。特にコロニーが萎縮性で一見発育の不良な株(KMU6087)では硬膜胞子が連鎖状に連なり、通常の菌糸が少なく、これが萎縮性に見える一因とも考えられた。経時的観察では接種後102h-106hの間で新たに伸展した菌糸に介在性の硬膜胞子の形成が見られた。この時点ではコロニー表面には分生子形成が見られない事より、本菌の迅速同定に有用な形態学的所見と考えられた。今後菌種、菌株を増やして本菌に特異的な所見か検討する必要があるが、分子マーカーを適応できない施設で、またスライド培養などのテクニックなしに分離培養中に同定が可能になる所見として注目される。

E. 結論

*T. tonsurans*のNTS I, II, IIIの3つのmolecular type別に形態学的、抗真菌剤に対する感受性を調べたが、typeによる差異は認めなかった。むしろ共通の所見として、本菌における培地内の硬膜胞子の形成が培養初期から見られ、特別な手法なく観察できるこの形質は本菌の迅速同定

に利用できる可能性が明らかになった。

F. 健康危険情報

依然格闘技グループでは集団感染が持続し、新しい患者の発生が持続している。

G. 研究発表

論文発表

1. 坂元とも子、安澤数史、藤井俊樹、田邊 洋、望月 隆、豊本貴嗣:某大学女子柔道部に集団発生しヘアブラシ法とテープ法を用いて検診した*Trichophyton tonsurans*感染症(投稿準備中)
2. Anzawa K, Mochizuki T, Kawasaki M, Ishizaki H, Takahashi Y, Fujihiro M, Shinoda H. Molecular epidemiology of *Trichophyton tonsurans* isolated in Japan between 2006 to 2010 and their *in vitro* susceptibility against oral antimycotics (投稿準備中)

学会発表

1. 坂元とも子、安澤数史、藤井俊樹、田邊 洋、望月 隆、豊本貴嗣:某大学女子柔道部に集団発生した*Trichophyton tonsurans*感染症第426回日本皮膚科学会北陸地方会(金沢市平成22年6月27日)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

特許取得

なし

実用新案登録

なし

その他

1. データは皮膚科関連学会、ならびに平成23年4月開催の日本医学会においてデータの一部を報告し、皮膚科医や家庭医の啓発に用いる。

9. 輸入真菌症の国内発生状況調査と
ヒストプラズマ症の迅速診断法改良・開発へ向けた基礎的研究

研究分担者 亀井 克彦 千葉大学真菌医学研究センター臨床感染症分野

研究協力者 豊留 孝仁 千葉大学真菌医学研究センター臨床感染症分野

研究要旨 継続的に輸入真菌症の国内発生状況調査を行った結果、これまで急速に増加していたヒストプラズマ症、コクシジオイデス症が落ち着きつつある一方、これまで極めて稀であったマルネツフェイ型ペニシリウム症が昨年に続き本年も連続して見られるなど、輸入真菌症の多様化の兆候が確認された。また、ヒストプラズマの国内定着を疑わせる症例も認められた。ヒストプラズマ症の迅速診断法の改良・開発については、新規抗原候補タンパク質について検討を進め、各エピトープ部位を持つ部分タンパク質を発現・精製し、その一部に高い反応性を示し新しい血清診断法に有望な部分タンパク質が存在することを示した。また、この過程で得られたタンパク質をコードする遺伝子等を用いて新規の特異的real time PCR法を開発し、有用性についての基礎的検討を行った。

1. 輸入真菌症の国内発生状況調査

A. 研究目的

輸入真菌症は、単に国内土着の真菌による一般的な真菌症と症状や病態が異なるだけでなく、その原因菌の多くが高病原性であり国内の真菌症とは全く異なった診療上のアプローチが必要であることから、その発生動向に関しては注意深いモニタリングの継続が必要である。当研究班ではこれまでコクシジオイデス症およびヒストプラズマ症を中心として輸入真菌症が増加しつつあることを明らかにし注意を喚起してきたが、本年度も引き続き実態調査を行った。

B. 研究方法

これまでと同様に千葉大学真菌医学研究センター及び国立感染症研究所に対する真菌症のコンサルテーションおよび菌株の同定、抗体の測定依頼などの依頼があった症例に基づいて基礎データを作製した。これに醫學中央雑誌、Medlineなどに掲載された報告症例も検索してデータを追加した。コクシジオイデス症に関しては、感染症法（4類）に基づく保健所への報告もチェックした。いずれも、症例の詳細に関しては必要に応じて主治医に直接問い合わせて情報を補完した。

C. 研究成果 (図1)

1) コクシジオイデス症

2010年は計1例が確認され、総症例数は62例となった。2007年以降、3例、3例、2例、1例と比較的症例数は落ち着いてきており、これまでの増加傾向が落ち着いきつつあるものと思われた。感染地は米国カリフォルニア州であり、病型では肺の孤立結節影を主訴とする慢性肺コクシジオイデス症であった。重篤な基礎疾患はなかった。

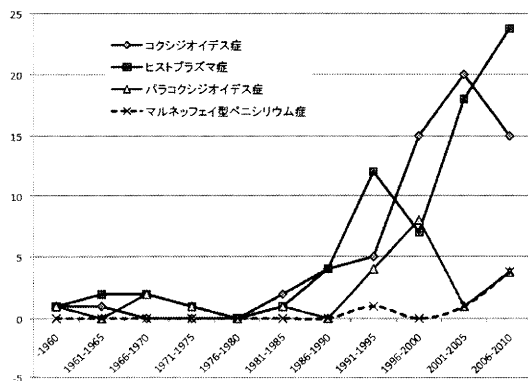


図1：我国の輸入真菌症症例数の変遷

これまで第一位であったコクシジオイデス症の新規症例数が徐々に減少した。ヒストプラズマ症がこれに代わっているが、一方でこれまで極めて散発的にしか見られなかったマルネツフェイ型ペニシリウム症が連続して発生するなど、多様化が進んでいる。またヒストプラズマ症のうち1例は国内感染の可能性が示唆された。

2) ヒストプラズマ症

2010年のヒストプラズマ症は3例が認められ総計は71例となった。感染地は東南アジア(インドネシア)及び南米(メキシコ)が各1例であった。残りの1例は感染地が不明であり、国内に土着する本菌による感染の可能性も考えられた。基礎疾患としてはHIV感染が1例、腎不全が1例、ほぼ健康と考えられる症例が1

例であった。

3) パラコクシジオイデス症

2009年に2例認められたパラコクシジオイデス症であるが、本年は発生が認められなかった。本症はほとんどの症例が来日中のブラジル人に発生しており、流行地訪問の日本人が感染する他の輸入真菌症とは、その増減に関する要因がかなり異なるものと考えられる。

4) マルネツフェイ型ペニシリウム症

2009年には新たな2例が相次いで発見されたマルネツフェイ型ペニシリウム症であるが、本年は昨年に引き続き症例が認められ(1例)、計6例となった。東南アジア(タイ)で感染したもので、基礎疾患はHIV感染、病型は全身播種であった。

5) その他の輸入真菌症

ブラストミセス症等の症例は認められなかった。

D. 考察

昨年までの検討から、コクシジオイデス症が一段落しつつあること、これに代わって急速に増加していたヒストプラズマ症がやや落ち着きつつあることが示されていたが、本年もその傾向をほぼ踏襲した結果となった。コクシジオイデス症については、流行地である米国でも症例がやや減少傾向にあることから、国内例の減少はその事実を反映した可能性が考えられる。しかし、米国におけるコクシジオイデス症はこれまでも大流行と減少の時期を繰り返してきており、近いうちに再び大流行となる可能性が高い。わが国でも早晩増加が予想され、今後も十分な警戒が必要である。その一方、これまで極めて稀で散発的に症例が見られるのみであったマルネツフェイ型ペニシリウム症の患者が昨年の2例に続き今年